Omaggi
dell'A.

1T
346

Istituto di Patologia generale della R. Università di Palermo

VITTORIO SCAFFIDI

Sui fattori che impediscono l'attecchimento dei tumori tra animali di specie affini

Prolusione al corso di Patologia generale
per l'anno scolastico 1914-1915

Estratto dalla "Gazzetta Internazionale di Medicina, Chirurgia Igiene, Interessi Professionali ,, Organo Settimanale. Napoli, Via Broggia 13 - N. 12 - 1915



NAPOLI
Stabilimento Tipografico Fratelli Ruggiano
Vico Fico al Purgatorio ad Arco, 1

1915

Istituto di Patologia generale della R. Università di Palermo

VITTORIO SCAFFIDI

Sui fattori che impediscono l'attecchimento dei tumori tra animali di specie affini

Prolusione al corso di Patologia generale
per l'anno scolastico 1914-1915

*Estratto dalla "Gazzetta Internazionale di Medicina, Chirurgia
Igiene, Interessi Professionali ,, Organo Settimanale.
Napoli, Via Broggia 13 - N. 12 - 1915*



NAPOLI
Stabilimento Tipografico Fratelli Ruggiano
Vico Fico al Purgatorio ad Arco, 1

1915

Chiamato per consenso unanime di questa Facoltà medica ad occupare la Cattedra di Patologia generale, debbo alla antica usanza accademica, la quale vuole che la prima lezione dettata da un insegnante sia circondata da una certa solennità, l' onore di potermi oggi rivolgere ad un uditorio così eletto.

Iniziare la carriera di insegnante in questa università, rappresenta indubbiamente per me un motivo di grande compiacimento, ma non può non suscitare e ravvivare in me stesso il dubbio, che le mie forze non abbiano a risultare inadeguate al compito assunto, specie quando si pensi alla nobile tradizione lasciata dal Prof. Trambusti nello insegnamento, in questo Istituto.

E in questo momento in cui rendo vivissime grazie ai Componenti di questa Facoltà medica, permettetemi che rivolga un saluto devoto al mio Maestro Prof. Galeotti; al Prof. Bignami, che suscitò e guidò le mie prime aspirazioni e i miei primi tentativi; ai miei Compagni di lavoro, dei quali sento di portare con me « qualche cosa », ai quali tutti, Maestri e Compagni di lavoro, debbo l'acquisizione di pregi e di virtù, la correzione di difetti.

La lunga consuetudine del lavoro in comune determina in ciascuno di noi solidi legami di affetto verso i propri Compagni, di affetto e di devozione verso i propri Maestri, che la lontananza non può cancellare, nè affievolire.

Io ho piena fiducia di trovare qui Compagni di lavoro, che

mi facciano sentire meno vivo il rammarico della lontananza dei Compagni di ieri.

La Patologia generale ha assunto in questi ultimi anni uno sviluppo considerevole specialmente per i numerosi metodi di indagine nuovi, che sono stati applicati allo studio delle alterazioni e delle manifestazioni morbose degli organismi viventi.

Mentre difatti sino a qualche anno fa la Patologia generale limitava il suo campo di studio ai risultati che si potevano ottenere con i metodi della tecnica istologica e batteriologica, essa si serve oggi, senza abbandonare i primi, della applicazione di metodi di indagine propri della chimica biologica, della chimica-fisica e della tecnica fisiologica, dando così allo studio dei fenomeni morbosi uno sviluppo tale, che permette di conoscere oltre che le cause anatomiche fondamentali, che provocano le deviazioni funzionali degli organi, i fenomeni stessi che accompagnano e sono indice di tali deviazioni.

La applicazione di questi nuovi metodi di indagine costituisce semplicemente un allargamento del campo di lavoro, della visuale del patologo, senza che per questo si possa o si debba parlare di abbandono dei primitivi metodi di studio, e senza quindi che nessuno abbia il diritto di lanciare alcun allarme in difesa di metodi, che hanno reso grandi servigi allo sviluppo delle nostre conoscenze nel campo della Fisiologia e della Patologia, e ai quali nessun Patologo intende rinunziare.

La Patologia generale non è una scienza che ha numerosi metodi di indagine propri, se si tolgono i metodi per lo studio della batteriologia, della sierologia, dei processi immunitarii; essa ha metodi in comune con la fisiologia; deve necessariamente applicare i metodi di studio della istologia, della chimica-fisica, della chimica biologica.

Per questa ragione tra i cultori della Patologia generale non ci sono nè « fisico-chimici », nè « chimici-biologi », nè istologi; ci sono semplicemente, o ci dovrebbero essere, studiosi e sperimentatori, che applicano allo studio dei fenomeni morbosi tutti i metodi di osservazione e di indagine, che possono in qualsiasi modo, per qualsiasi via, portare alla conoscenza dei fenomeni morbosi.

Non vi ha infatti chi non veda, a me sembra, che lo stu-

dio dei problemi riguardanti la Patologia generale può e deve necessariamente riuscire tanto più completo, quanto più svariati sono i metodi di ricerca che vengono adottati.

Così per esempio, la conoscenza delle minute alterazioni, apprezzabili all'esame istologico, che seguono in un nervo reciso, o che si svolgono in un muscolo comunque leso, viene completata dallo studio delle modificazioni che nei monconi del nervo reciso, o nel muscolo, si manifestano a carico della trasmissione degli stimoli e della elaborazione di essi.

Lo studio stesso delle alterazioni degenerative, cui vanno incontro i costituenti cellulari dell'organismo vivente, già dai grandi Maestri che hanno gettato le basi della patologia generale e della patologia cellulare, è stato completato con indagini chimiche, che si sono svolte contemporaneamente, o hanno seguito le indagini istologiche.

Tutti i metodi di indagine nuovi, che potranno venire applicati allo studio di queste stesse alterazioni fondamentali della cellula, non potranno che farci progredire verso la conoscenza, quanto più possibile intima ed esatta, delle alterazioni stesse, giacchè ci potranno mettere in grado non solo di apprezzare e osservare il fatto compiuto, (così come è possibile con la semplice applicazione dei metodi istologici), ma di farci intendere la natura stessa del fenomeno ed il meccanismo con cui esso si determina e si compie.

Le scienze da cui ci vengono i metodi di ricerca in questi ultimi anni entrati nel campo della Patologia generale, hanno del resto raggiunto tale sviluppo, che richiedono l'attività esclusiva di studiosi che si dedichino ad esse.

In alcuni paesi tali scienze, applicate allo studio della Medicina, costituiscono materie di insegnamento obbligatorio, o insegnamenti autonomi, che si svolgono paralleli allo insegnamento di materie fondamentali della Medicina, e lo completano; in Italia, dove tali insegnamenti sussidiari difettano o mancano del tutto, la pressione di queste nuove correnti di indagine si è fatta sentire più viva sulle materie di insegnamento, che per la loro natura erano più adatte ad accoglierle e coltivarle e svolgerle; provocando così un ampio rimaneggiamento delle questioni più delicate della fisiologia e della patologia generale; determinando non un nuovo

esclusivo indirizzo di ricerca scientifica, a scapito dei vecchi metodi di studio sino ad ora applicati, ma un completamento delle nostre cognizioni, su questioni sino a ieri parzialmente note, perchè indagate con mezzi di tecnica unilaterali o insufficienti.

Adesso si può ritenere che non ci sia questione che interessi la patologia generale, la quale non si possa studiare con metodi diversi, o non si debba completare con mezzi di ricerca nuovi.

È a tutti noto che lo studio dei tumori, il quale ha sempre tenuta desta l'attività dei patologi ed ha anche richiamato l'attenzione degli studiosi e del legislatore, in questi ultimi tempi ha preso uno sviluppo considerevole e la grave questione è stata ed è vivamente dibattuta, sia per quello che riguarda la natura, sia per ciò che concerne la patogenesi, sia per quello che interessa la terapia.

Questo ultimo periodo di feconda attività, riguardante una questione che interessa così vivamente il patologo, trae origine dalla estensione delle ricerche sperimentali ai tumori spontanei di alcuni animali, specie del ratto e del topo; tumori che hanno molti punti di contatto con i tumori umani e dai quali se ne differenziano, almeno apparentemente, specie per la facilità con cui possono venire sperimentalmente trapiantati.

Oramai sono sorti Istituti appositi, che si occupano esclusivamente delle indagini riguardanti la natura, la patogenesi e la terapia dei tumori; gli Istituti di Ehrlich a Francoforte, quello diretto da Bashford a Londra, il nuovo grande Istituto sorto di recente a Berlino, alla direzione del quale è stato chiamato il Wassermann, sono un indice dell'interesse che gli scienziati, i profani e gli uomini di governo hanno dedicato alla grave questione.

In Italia, dove le ricerche sui tumori hanno una nobile tradizione, specie per opera del Durante, non esiste ancora alcun Istituto autonomo; il nuovo indirizzo di studi è penetrato nei vari Laboratori, specie di Patologia generale e di Patologia chirurgica e di Anatomia patologica, che per l'indirizzo e la

natura stessa dei loro studi più si prestano ad accogliere e coltivare tali ricerche.

Io mi permetto di esporre oggi i risultati di ricerche personali intorno alla questione concernente i fattori che regolano l' attecchimento dei trapianti di tumori tra animali di specie diversa.

Sono note a questo riguardo le ricerche di Ehrlich, sulle quali poggia la ipotesi della atrepsia.

Ehrlich potè osservare, che se un tumore spontaneo del topo si innesta nel ratto, esso assume, in questo ultimo animale, un decorso e presenta caratteri di accrescimento, che differiscono profondamente dal decorso e dai caratteri di accrescimento, che lo stesso tumore presenta nei trapianti nel topo.

Mentre difatti il carcinoma 5 dell' Istituto di Francoforte, adoperato da Ehrlich nelle sue ricerche, dà nei trapianti nei topi quasi il 100 per 100 di casi positivi, cioè di attecchimento, e il trapianto si può ripetere per un numero infinito di volte, senza che il tumore perda le sue proprietà biologiche e i suoi caratteri istologici, lo stesso tumore, trapiantato nei ratti, dà luogo, nei primi 5-8 giorni, allo sviluppo e allo accrescimento progressivo di un nodulo, in corrispondenza del punto in cui è stata deposta la poltiglia del tumore, ma dopo tale periodo di tempo esso comincia a regredire e scompare del tutto nei 10 giorni consecutivi.

Se si prendono frammenti di questi noduli del sottocutaneo del ratto, nei primi 6-8 giorni consecutivi all' innesto e si trapiantano in altri ratti, il tumore non attecchisce più ; invece esso si riproduce se si innestano frammenti nei topi, nella specie animale cioé in cui il tumore si era spontaneamente sviluppato.

Questo fatto si può provocare numerose volte, con innesti successivi del tumore del topo nel ratto, da questo di nuovo nel topo, quindi nel ratto, e così via ; si può cioè riprodurre all' infinito questo passaggio del tumore a zig - zag nelle due specie animali : *mus musculus* e *mus decumanus*.

Da risultati così nettamente schematici Ehrlich costruì una ipotesi altrettanto semplice e quindi altrettanto interessante, giacchè sono appunto, a me sembra, le idee semplici, che ela-

borate da menti geniali, riescono a chiarire una questione, a suscitare intorno ad essa un lavorio intenso, che potrà portare alla costruzione di una solida base all' ipotesi, e potrà magari abbatterla. Sono insomma di quelle idee che aprono una strada.

Ehrlich dunque ammise che questo fatto dipendesse dalla assenza nell' organismo del ratto, del materiale necessario, della sostanza indispensabile (che egli chiama « sostanza X »), alla nutrizione e allo sviluppo del tumore, sostanza che sarebbe invece presente nell'organismo del topo.

Questa ipotesi, come è noto, porta il nome di ipotesi della « atrepsia », cioè ipotesi della « mancanza di nutrimento ».

Ehrlich arriva a tale concezione in base alle seguenti argomentazioni :

1° La impossibilità di attecchimento del tumore del topo nel ratto, non può essere dovuta ad un processo di immunità naturale del ratto, cioè alla presenza di anticorpi, che agiscono direttamente sulle cellule del tumore, giacchè il tumore del topo si sviluppa nel ratto, con i caratteri normali, nei primi giorni successivi allo innesto.

2° Non può neanche ammettersi, che l'innesto del tumore del topo nel ratto provochi nell'organismo di questo animale la produzione di anticorpi specifici, nei primi giorni durante i quali esso si accresce, giacchè in tal caso non si spiegherebbe come le cellule neoplastiche siano ancora capaci di attecchire nel topo e di svilupparsi con la primitiva energia, dopo rimaste per alcuni giorni nell'organismo del ratto.

3° Infine Ehrlich si serve di un ragionamento di analogia, basato sulla osservazione di quanto avviene negli innesti di alcuni batteri in terreni di cultura poco adatti al loro sviluppo. Egli aveva osservato che si ottiene facilmente lo sviluppo del bacillo di Pfeiffer sull'agar, mediante uno striscio di materiale proveniente direttamente dallo espettorato ; da questo primo trapianto è possibile un secondo innesto su un nuovo terreno di cultura , ma il bacillo non si sviluppa più in ulteriori trapianti. Ehrlich pensa, che ciò si debba al fatto, cha una certa quantità del materiale necessario allo sviluppo del bacillo della influenza si porta nel primo tubo di innesto e da questo ancora nel secondo , ma che negli innesti successivi, per la estrema diluizione che subisce la piccolissima quantità

di espettorato, introdotta con l' ansa nel primo tubo di agar, la sostanza che permetterebbe lo attecchimento del bacillo nei primi due innesti, verrebbe a mancare del tutto e a questa assenza si dovrebbe l'arresto di sviluppo del germe.

Non si tratterebbe quindi, nel caso dei tumori, di un meccanismo di immunità per anticorpi preesistenti e provocati dallo innesto del tumore, ma di una refrattarietà dovuta alla assenza di una determinata sostanza, capace di provvedere allo sviluppo e al nutrimento delle cellule neoplastiche proliferanti nell'ospite.

Una discussione minuta su tutti i fatti che sono stati portati pro e contro questa ipotesi, esorbiterebbe dallo scopo che mi sono prefisso. Le ricerche che direttamente o indirettamente sono state compiute e si possono riferire a tale questione sono numerosissime e la esposizione minuta di esse mi porterebbe a dilungarmi troppo, senza che dalla discussione stessa ne possano sorgere conclusioni definitive e nette. Mi limito quindi alla esposizione di ricerche sperimentali, che si riferiscono direttamente alla questione, impostandola nello stesso ordine di idee, che hanno portato Ehrlich alla concezione della ipotesi della atrepsia.

Premetto che nelle ricerche sperimentali sui tumori, sono così numerose le cause di errore e che possono portare ad apprezzamenti poco attendibili, che si rendono necessarie alcune precauzioni sperimentali, applicate in modo rigoroso, perchè si possa fare valido affidamento sui risultati, che se ne ottengono. Tali precauzioni sono :

1° l'uso di un ceppo di tumore stabilizzato, mediante numerosi passaggi in animali della stessa specie ; è necessario cioè un tumore che sia stato coltivato a lungo in laboratorio e che abbia raggiunto da molte generazioni caratteri di attecchimento e di accrescimento ben definite ;

2° la necessità che gli animali che servono al trapianto del tumore, provengano da vivai in cui siano adottati metodi di alimentazione e di coltivazione, pressochè identici e sopratutto costanti ;

3° la possibilità di disporre di un grande numero di animali, in modo che i singoli innesti del tumore che si studia,

si possano contemporaneamente praticare su numerosi esemplari.

Ricerche in cui queste condizioni favorevoli per un giusto apprezzamento dei risultati si avveravano, sono state da me recentemente compiute nello stesso Laboratorio di Ehrlich, nella Sezione per lo studio del cancro, diretta dal Professore Apolant. Furono adoperati due tumori e cioè un carcinoma e un sarcoma spontanei del topo, che nel Laboratorio di Ehrlich sono coltivati da molti anni e portano rispettivamente la denominazione di carcinoma 5 e sarcoma 7.

Questi due tumori, quando le ricerche furono iniziate, erano stati trapiantati, per la conservazione del ceppo, numerose volte e precisamente il carcinoma 5 si trovava alla 206ª generazione e il sarcoma 7 alla 307ª.

Questi due tumori davano nel topo pressochè il 100 $^0/_0$ di attecchimento e lo sviluppo procedeva sempre, in tutti gli esemplari, con caratteri definiti e costanti.

Nelle ricerche da me compiute furono investiti più di 1000 tra topi e ratti.

Partendo dal concetto di Ehrlich che perchè l' innesto di un tumore originario di una determinata specie animale attecchisca in una specie animale diversa dalla originaria , è necessaria la presenza di una determinata « sostanza X » che si trova nella prima specie animale e non nella seconda, era opportuno constatare come gli innesti dei tumori del topo progredivano nel ratto, se si aggiungeva al materiale di innesto la poltiglia di un organo del topo, in cui la « sostanza X » doveva esistere.

Furono così compiute 5 serie di ricerche e cioè quattro col sarcoma 7 e una col carcinoma 5.

In ogni serie si trapiantava il tumore proveniente dal topo, contemporaneamente in un lotto di ratti e in un lotto di topi. Come risultato di questo primo innesto si aveva nei topi lo sviluppo del tumore con una percentuale del 100 $^0/_0$; nei ratti invece si osservava la formazione di un nodulo sottocutaneo, che aumentava di volume nei primi 6-8 giorni e tendeva a regredire dopo questo tempo ; esattamente quindi quello che era stato osservato da Ehrlich.

All'esame istologico del tumore sviluppatosi nei topi, si ri-

scontrava la produzione di tessuto neoplastico, che riproduceva la struttura del tumore originario; all'esame istologico del nodulo sottocutaneo sviluppatosi nei ratti, si aveva generalmente, non in tutti gli esemplari, la presenza di numerose zolle di tumore, di struttura identica al tumore originario, con numerose cellule in cariocinesi, ciò che è indice di un attivo accrescimento del neoplasma ; queste zolle però erano circondate da uno spesso manicotto di leucociti e di elementi connettivali ed erano frammiste a masse di tessuto in via di necrosi.

Ora se questi noduli sottocutanei , sviluppatisi nei ratti , si trasportavano in un lotto di topi , cioè nella specie animale originariamente portatrice del tumore , si aveva generalmente lo sviluppo dello stesso tumore, che riprendeva i caratteri di accrescimento normali ; se però gli stessi noduli si trapiantavano in un nuovo lotto di ratti , allora si manifestava, nel punto di innesto, un nuovo nodulo di accrescimento (che aveva gli stessi caratteri macroscopici dei noduli sviluppatisi nei primi ratti, inoculati direttamente con tumore di topo), ma in essi si osservava la quasi costante assenza di cellule neoplastiche, le quali, come si è veduto, erano ancora generalmente presenti nei noduli che si sviluppavano nel ratto in seguito al trapianto del tumore, proveniente direttamente dal topo.

Il controllo biologico conferma i risultati della ricerca istologica.

Difatti se si trapiantavano nei topi i noduli del primo lotto di ratti , cioè dei ratti innestati direttamente con il tumore proveniente dal topo , si aveva lo sviluppo del tumore , in una percentuale elevata di esemplari; se invece si innestavano negli stessi animali , cioè nei topi, noduli del secondo lotto di ratti, (cioè di animali innestati con materiale proveniente dal ratto stesso), generalmente non si aveva più , nel topo, l' attecchimento del tumore.

Dico generalmente , giacchè in due serie di trapianti mi fu possibile constatare la presenza di cellule neoplastiche, ancora capaci di proliferare, dopo il secondo trapianto diretto da ratto a ratto.

Tutti questi fatti hanno avuto lo stesso svolgimento, sia che il tumore fosse stato trapiantato nel ratto senza l'aggiunta di tessuto o di succhi organici della specie animale portatrice del

tumore, cioè del topo; sia che ad esso fosse stata aggiunta la poltiglia di milza o di embrione di topo, quella « sostanza X » cioè che, secondo Ehrlich, dovrebbe esistere nell' organismo del topo e in virtù della quale il tumore si svilupperebbe.

Questi risultati dimostrano:

1° È possibile trapiantare numerose volte il tumore di una determinata specie animale (topo), in una specie affine (ratto), e da questa nella prima e così successivamente, per numerosi trapianti a zig-zag, purchè gli innesti si facciano su numerosi esemplari e con materiale preso da individui nei quali esso si trovi in ottime condizioni di conservazione; giacchè le cellule del tumore in questi continui passaggi a zig-zag attraverso organismi di specie diversa od affine alla specie portatrice del tumore, perdono parzialmente la capacità di accrescimento e ciò determina una riduzione della percentuale di attecchimento.

2° Operando in tali condizioni ideali, con un materiale abbondante, è possibile, eccezionalmente, di ottenere che il tumore persista ancora virulento, capace cioè di svilupparsi ancora nella specie animale in cui esso originariamente si trovava e in cui esistono le migliori condizioni per il suo accrescimento, anche dopo che è stato trasportato per due volte consecutive nell' organismo di una specie animale affine alla precedente, ma naturalmente refrattaria allo attecchimento del tumore in parola.

3° Questo fatto, la persistenza cioè della capacità proliferativa delle cellule del tumore, dopo questo doppio passaggio in un organismo refrattario, si può avverare, sia che si aggiunga alla massa di innesto del tumore, poltiglia di organi appartenenti alla specie animale da cui il tumore proviene, cioè la « sostanza X », sia che questa sostanza non si aggiunga.

4° Ne segue, come logica conseguenza, che la refrattarietà di una determinata specie animale verso un tumore spontaneamente sviluppatosi in una specie animale diversa od affine, non è determinata dalla assenza nell' organismo di una « sostanza X » che sia indispensabile allo sviluppo delle cellule neoplastiche.

Evidentemente la ipotesi della atrepsia, basata su osservazioni sperimentali, che nelle linee generali si debbono ritenere rigorosamente esatte, non costituisce che una concezione teleologica del fenomeno, priva quindi della rigorosa diretta dimostrazione scientifica; essa ha avuto del resto, come tutte le concezioni scientifiche di Ehrlich, il merito eccezionale di promuovere una corrente feconda di ricerche sulla patogenesi e sulla terapia dei tumori, richiamando l' attenzione degli studiosi su una questione viva, sia per la importanza sociale che essa assume, sia per lo stimolo di indagine che idee nette, limpide, schematiche suscitano negli studiosi, quando queste idee poggiano su un substrato scientifico sperimentale.

Stabilito quindi che la causa che determina la refrattarietà di una specie animale per un tumore di un' altra specie animale non sia rappresentata dalla assenza di « qualche cosa », di una qualsiasi sostanza a composizione e di natura ignota, che nella specie animale che ospita il tumore esisterebbe, ma che non si troverebbe nell'organismo di animali di specie affini, ne segue come conseguenza che la causa deve, o almeno può essere ricercata nell' organismo della specie refrattaria, e nel caso nostro, nell' organismo del ratto.

Tale questione si può probabilmente riannodare alla questione generale del trapianto dei tessuti tra individui della stessa specie e di specie diverse. Naturalmente si deve tenere presente nello apprezzamento dei fatti, sia il diverso grado di attività proliferativa delle cellule di un neoplasma e delle cellule di un tessuto adulto, sia la grande resistenza delle prime, rispetto alle seconde; ma un fatto fondamentale appare identico in tutti e due i processi e cioè, che mentre i trapianti di tessuti adulti attecchiscono tra individui della stessa specie e meglio della stessa razza, o della stessa famiglia, essi determinano, tra individui di razza diversa, una serie di fenomeni reattivi in corrispondenza del punto di innesto, che sono indice di una attiva difesa dell' organismo stesso che tende, con i mezzi che sono a sua disposizione, ad impedire l'attecchimento del nuovo tessuto.

Questi fatti sono stati diffusamente studiati e illustrati istologicamente, e non è il caso che io mi dilunghi a ricordarli qui.

In fondo il materiale di innesto che non attecchisce, agisce nell'organismo dell'ospite come un corpo estraneo; viene quindi paralizzata l'attività proliferativa delle cellule che debbono mantenere i rapporti con l'ospite, viene impedita la vascolarizzazione del materiale di innesto che cade in necrosi ed è attivamente spazzato via, per un processo concomitante di istolisi e di fagocitosi.

Questi due processi si svolgono in apparenza contemporaneamente, ma è effettivamente necessario che la istolisi preceda la fagocitosi, giacchè questa ha luogo ed è possibile solo quando quasi tutti i componenti cellulari del tessuto innestato hanno subito profondi processi regressivi e hanno perduto la loro consistenza e la loro struttura morfologica.

Nei ratti nei quali è stato trapiantato il tumore del topo si determinano appunto questi fenomeni : attorno alla piccola quantità di poltiglia innestata nel sottocutaneo , si stabilisce un intenso processo reattivo , caratterizzato dalla presenza di abbondantissimi elementi bianchi del sangue , i quali si dispongono attorno ai singoli frammenti di tumore e si infiltrano tra di essi ; il connettivo circostante prolifera attivamente, per cui la massa di innesto viene rapidamente incapsulata ; si ha cioè un processo che tende a circoscrivere il corpo estraneo ed impedire che esso dilaghi per la moltiplicazione delle cellule neoplastiche.

Le cellule del tumore del topo spiegano una resistenza considerevole agli ostacoli che l'organismo del ratto oppone al loro accrescimento e lo sviluppo che si avvera nei primi 8 giorni consecutivi allo innesto del tumore e che si manifesta con la rapida formazione di un nodulo in corrispondenza del punto in cui è stata deposta la poltiglia è dovuto, sia alla proliferazione delle cellule neoplastiche trapiantate, sia, e in grandissima parte, alla infiltrazione leucocitaria e alla reazione istioblastica con cui l'organismo refrattario provvede alla propria dlfesa.

In molti casi la distruzione del neoplasma è rapida e i frammenti innestati scompaiono presto , nei primi due o tre giorni consecutivi allo innesto , o subiscono così profonde modificazioni, che trasportate di nuovo nell'ospite originario, cioè nel topo, non proliferano oltre.

La tendenza dell'organismo della specie refrattaria è appunto questa, ed esso riesce infatti a sbarazzarsi costantemente del tumore trapiantato, più o meno rapidamente, o nei primissimi giorni cioè, o nei 12-14 giorni consecutivi al trapianto.

In questo primo trapianto del tumore dal topo al ratto, alcune cellule del tumore conservano, durante i primi 5-8 giorni, i proprii caratteri biologici, per la straordinaria resistenza agli agenti esterni e alle cause nocive in genere, propria delle cellule non completamente differenziate.

A questo riguardo a me basta ricordare che le cellule del carcinoma 5, da me adoperato, conservano la capacità di proliferare (come ha dimostrato lo stesso Ehrlich), ancora dopo 2 anni di permanenza ad una temperatura di 8-12 gradi sotto zero.

Dato quindi questo alto grado di resistenza, e dato il fatto che solo in casi eccezionali le cellule di questo tumore, già trapiantate in un ospite refrattario, sono capaci di accrescimento in un secondo trapianto diretto in un nuovo ospite refrattario, si deve arguire che l'organismo possiede mezzi di difesa di una straordinaria attività.

I risultati del secondo innesto diretto del tumore nell'organismo di una specie animale refrattaria, confermano tale supposizione, giacchè la quasi costante mancanza di attecchimento del tumore nel secondo ospite, che solo eccezionalmente viene interrotta, è indice sicuro che durante la precedente permanenza nell' organismo dell' ospite refrattario, le cellule neoplastiche hanno subìto tali profonde modificazioni, da averne considerevolmente diminuiti i poteri di resistenza, e da subire un affievolimento della loro attività proliferativa e della loro vitalità; dimodochè, sia una permanenza prolungata oltre i 5-8 giorni nel primo ospite, sia l'organismo del secondo ospite hanno rapidamente ragione di esso e ne impediscono l'ulteriore riproduzione.

Tutti questi fatti, e cioè i risultati negativi ottenuti dalle ricerche riguardanti gli innesti di tumori in animali di specie refrattaria, con aggiunta di estratti di organi di animali di specie recettiva, e il quadro istologico che si manifesta nel punto di innesto del tumore in un animale refrattario, indicano che la mancanza di attecchimento non viene determinata dalla assenza nell'organismo refrattario di « *qualche cosa* » capace di permettere e suscitare l'attecchimento e lo sviluppo del tumore,

ma dalla presenza in esso di « *qualche cosa* » che attivamente si oppone a che il tumore vi attecchisca.

Alcune ricerche compiute in questi ultimi tempi su questioni affini a quella da me trattata, vengono indirettamente in appoggio a questo ordine di idee, in quanto che da esse è risultato che è possibile di rompere l'immunità o di accrescere la recettività, mediante la asportazione della milza e la esposizione più o meno prolungata dell'organismo ai raggi Röntgen.

Ad ogni modo, comunque si vogliano considerare tali osservazioni, esse non sono direttamente applicabili alla questione che ci riguarda, considerata nei termini nei quali è stata impostata, giacchè le ricerche sulla azione dello smilzamento e della irradiazione sullo attecchimento e sullo sviluppo dei tumori riguardano animali della stessa specie portatrice del tumore e non animali di specie diversa od affine.

Su animali di specie affine, e precisamente sul *mus decumanus*, come è stato recentemente riscontrato da me e da Lanzillotta, lo smilzamento non ha alcun effetto; esso non interrompe, nè modifica in alcun modo la refrattarietà naturale dell'organismo per un tumore spontaneo del topo, tumore che nel nostro caso era lo stesso carcinoma 5 dell' Istituto di Francoforte, da me adoperato nelle ricerche dianzi esposte.

Lo studio diretto dei fattori che possono rendere naturalmente refrattario l'organismo di una determinata specie animale allo attecchimento di un neoplasma spontaneo di un'altra specie animale, non era sino adesso possibile tentarlo che con metodi i quali non permettevano di trarre conclusioni definitive e sicure dai risultati delle ricerche, che su tale questione potevano venire istituite.

Recentemente la questione è stata da me studiata con un metodo di ricerca, che permette di stabilire direttamente se nell'organismo degli animali di specie refrettaria esiste qualche cosa che può agire direttamente sulla massa di innesto di un tumore di una specie animale affine.

I fatti notati all'esame istologico, durante le varie fasi nelle quali sono stati esaminati i numerosi noduli di accrescimento nei ratti innestati con tumore di topo, autorizzano a pensare

che nell'organismo dei primi, cioè dei ratti, esistano fermenti capaci di intaccare il protoplasma delle cellule del tumore della specie animale affine, cioè del topo.

I recenti studi di Abderhalden sulla comparsa di « fermenti protettivi specifici » nell' organismo di animali nei quali si introducono, o prendono sviluppo, sostanze proteiche normalmente non esistenti nell' organismo stesso, se non istradavano direttamente alle ricerche che esporrò brevemente, fornivano un metodo di indagine, che poteva essere applicato allo studio della questione che ci riguarda.

Il metodo di Abderhalden per la dimostrazione dei fermenti protettivi si basa, come è noto, sul principio della scissione delle proteine coagulate, per mezzo di fermenti esistenti nel sangue, fermenti che, secondo Abderhalden, sarebbero strettamente specifici.

Nelle ricerche da me compiute furono preparate le proteine del tumore (il carcinoma 5), dopo che esso aveva raggiunto nel topo un discreto sviluppo.

Il lavaggio era protratto sino alla completa scomparsa della reazione che la ninhydrina dà in presenza dei prodotti di scissione delle proteine; quindi per ciascun esperimento, furono fatte le seguenti prove:

1° una o più prove di dialisi con sangue di ratto e un frammento del tumore contenente le proteine coagulate;

2° una prova di dialisi di controllo con solo siero di sangue di ratto;

3° una seconda prova di controllo con un frammento di tumore contenente le proteine coagulate, immerso in acqua distillata.

Il sistema, tenuto in ambiente sterile, si lasciava per 16 ore in termostato e quindi si praticava nel liquido del vaso, nel quale era immersa la membrana dializzatrice, la reazione della ninhydrina.

Furono fatte ricerche sia con siero di sangue di ratti normali, sia con siero di sangue di ratti smilzati, sia infine con siero di sangue di ratti, cui era stato innestato precedentemente il carcinoma 5.

I risultati ottenuti dagli esperimenti finora compiuti, sono pressochè concordi e autorizzano a ritenere che nel siero di

sangue di animali refrattari allo attecchimento di un tumore spontaneo di una specie animale diversa o affine, esistono fermenti capaci di intaccare la molecola proteica del protoplasma delle cellule del tumore stesso.

I risultati di queste ricerche, le quali saranno ulteriormente proseguite, a me sembra diano la dimostrazione diretta della causa fondamentale, se non unica, che determina la refrattarietà del ratto verso un tumore spontaneo del topo; ma probabilmente ricerche ulteriori dimostreranno che la refrattarietà dell'organismo di una determinata specie animale, verso i trapianti di tessuti normali o patologici di specie animali diverse o affini, poggia sugli stessi fattori.

Io ricordo qui un fatto, che troverebbe la più sicura ed elegante spiegazione nella ammissione della esistenza in tutti gli organismi di fermenti capaci di aggredire i tessuti di specie diversa; intendo riferirmi ai risultati delle trasfusioni sanguigne, le quali, è a tutti noto, tanto più facilmente riescono, quanto più sono affini non solo le specie, bensì le razze e anche gli individui tra i quali si pratica la trasfusione.

In questo ultimo caso, per la composizione stessa delle emazie, il fenomeno della istolisi che si avvera nella trasfusione del sangue tra individui di specie diversa, si manifesta con una straordinaria evidenza e rapidità, giacchè la delicata struttura delle emazie si infrange rapidamente di fronte alla energica azione dei fermenti e la emoglobina che esse contengono nel loro stroma diffonde nel siero, funzionando così da squisito indicatore del fenomeno, cioè della avvenuta distruzione delle emazie.

Nel caso degli altri tessuti i fatti si svolgono più lentamente per la natura stessa degli elementi che li costituiscono e per la maggiore resistenza che essi dimostrano verso gli stessi fattori, che riescono rapidamente nocivi per le emazie.

La presenza nell'organismo di fermenti capaci di aggredire le proteine di specie diversa modifica, a me sembra, il concetto originario di Abderhalden sulla natura dei « fermenti protettivi ».

Tali fermenti difatti non si possono considerare come specifici, poichè nell'organismo refrattario, nel caso da noi studiato, i fermenti esisterebbero indipendentemente dallo innesto del tumore.

Nel nostro caso quindi si deve pensare alla esistenza di fermenti polivalenti, capaci di aggredire le proteine le più svariate di cellule estranee all'organismo. Ciò non toglie che nell'organismo non possano comparire fermenti specifici, in seguito alla introduzione o allo sviluppo di proteine eterogenee, o che tale introduzione o sviluppo non possa esagerare la attività di di fermenti naturalmente esistenti.

Ed ora mi sia permesso di ritornare per un momento al concetto esposto allo inizio di questa lettura : non ci è questione di biologia o di patologia che non possa e non debba venire studiata con più metodi di indagine, appartengano essi a qualsiasi scienza, siano sorti in virtù di qualsiasi corrente di studii.

A noi preme solo lo studio dei fenomeni per risalire alle cause, ma a queste bisogna giungere attraverso l'esperimento e la indagine scientifica.

In questo lavoro è necessaria la reciproca cooperazione di tutti : sono i Colleghi che possono completare e suggerire una ricerca, sono i Compagni di lavoro che possono suscitare una idea, la giusta interpretazione di un dettaglio.

Questo criterio, io credo , deve presiedere alla educazione scientifica dei giovani che si avviano all'esercizio professionale, si preparano cioè allo apprezzamento dei fatti che passeranno sotto la loro osservazione , nelle molteplici manifestazioni della vita.

È necessario per questo, che nella educazione scientifica dei giovani abbia la prevalenza la parte dimostrativa; è necessario che l' insegnamento abbia un indirizzo prevalentemente pratico, perchè i giovani imparino a saper vedere e a sapere apprezzare quanto passa sotto la loro osservazione. Nei limiti dei mezzi che sono a mia disposizione, io mi propongo di seguire tali criteri ; spero di trovare nei Discepoli della scuola i Compagni di lavoro del Laboratorio.

Palermo 26 gennaio 1915.